

Dukes' B 대장암중에서 림프전이의 임상적 의의

순천향대학교 의과대학 외과학교실

이 호 원 · 장 용 석

Clinical Significance of Lymph Node Micrometastasis in Patients with Dukes' B Colorectal Cancer

Hyo-Won Lee, M.D., Yong-Seog Jang, M.D., Ph.D.

Department of Surgery, College of Medicine, Soonchunhyang University Hospital, Seoul, Korea

Purpose: This study aimed to provide immunohistochemical evidence of micrometastasis in patients with node-negative Dukes' B colorectal cancer and to evaluate the clinical implications, including prognostic significance, of lymphatic metastasis.

Methods: A retrospective study of 90 patients who underwent a curative operation due to colorectal neoplasms from 1996 to 2001 was performed. Two consecutive sections of lymph nodes were prepared: one for ordinary hematoxylin-eosin staining, and the other for immunohistochemistry with pancytokeratine antibody. All clinical factors, including survival rate, were compared between patients with and without lymph-node metastasis. The mean follow-up period was 36.1 months.

Results: Micrometastasis was confirmed in 115 nodes (7.9%) from 32 patients (35.6%). No correlations were observed between micrometastases and prognostic factors, including survival rate, except for lymphatic invasion and postoperative TNM staging. Twenty-six of the 32 (81.3%) patients with micrometastases belonged to stage T3N0M0 ($P < 0.003$).

Conclusions: The immunohistochemical assay may be a useful way to identify micrometastasis in patients with Dukes' B colorectal neoplasms, but we were not able to demonstrate the prognostic significance of micrometastasis. *J Korean Soc Coloproctol 2004;20:57-63*

Key Words: Colorectal neoplasms, Dukes' B, Lymphatic metastasis, Survival rate, Immunohistochemistry
결장직장종양, Dukes' B, 림프전이, 생존율, 면역조직화학

책임저자: 장용석, 서울시 용산구 한남동 657
순천향대학교 의과대학 외과학교실(우편번호: 140-743)
Tel: 02-709-9240, Fax: 02-795-1682
E-mail: ysjang57@hosp.sch.ac.kr

본 논문의 요지는 2003년 아시아대장항문학회에서 포스터 발표하였음.

서 론

결장직장암에서 가장 잘 알려진 예후인자는 원발암의 장벽 침범도, 대장직장 주변부의 림프절 전이여부 및 타 장기로의 전이여부이다. Dukes 병기 A (T1-2N0M0, American Joint Committee on Cancer/International Union Against Cancer Stage I)는 종양의 성장이 점막, 점막하, 근육층에 국한된 반면에 그 이상의 층을 침범한 경우를 Dukes 병기 B (T3-4N0M0, Stage II)로, Dukes 병기 C (anyTN1-3M0, Stage III)는 그 이상의 층을 침범한 경우를 일컫는다.¹ 일반적으로 Dukes 병기 C인 경우에 림프절 전이가 없는 경우보다 수술 후 생존율이 짧다. 5년 생존율을 비교해 보면 대략 Dukes 병기 A인 경우 90~95%, 병기 B는 70~85%, 병기 C는 40~60%이다. 대장암의 예후는 수술 시 암의 진행 정도에 따라 결정되는데, 이 중 림프절 전이여부가 병기 결정 및 예후에 중요한 작용을 하며 수술 후 항암치료나 방사선 치료의 계획을 수립하는 데 중요한 인자로 알려져 있다. 그러나 병리학적으로 림프절 전이가 없었던 20~30% 정도는 국소 재발이나 혈행성 전신 재발에 의해 사망하게 되는데 이것은 고전적인 H&E 염색법으로는 진단하기 어려운 미세전이(micrometastasis)에 의해 일어나는 것으로 설명하고 있다.^{2,3} 그러므로 고전적인 hematoxylin and eosin (H&E) 염색법에 근거한 병기 결정은 단독 세포 단위의 미세전이나 작은 세포 군집형태의 미세전이, 또는 절편되지 않은 림프절 부위의 전이를 확인하기에는 문제점이 많은 실정이다.⁴ 최근 면역조직화학염색방법,⁵ RT-PCR (Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction)⁶⁻⁸ 등을 이용한 분자 생물학적 검사 방법 등이 소개되어 많은 발전이 이루어지고 있으며, 이 중 하나가 keratin을 이용한 면역조직화학법이다. Keratin은 세포 골격을 이루는 중간세사(intermediate filament)의 일종으로 40~67 Kd의 분자량을 가진 단백질로 모든 상피세포에서 분포하며, 상피세포기원 종양의 경우 암 발생 단계에서 중간세사를 발현하므로 면역조직화학방법으로

이러한 단백질을 규명하는 것은 암세포의 생물학적 특성을 결정하는 데 많은 도움을 주고 있으며 림프전이를 확인하는 데 유용한 방법으로 알려지고 있다.^{4,9} 현재까지 약 20종의 keratin이 발견되었으며 항-케라틴 항체는 위장관의 원주상피 및 요관의 이행상피에 있는 keratin과 반응하지만 유방조직, 폐 조직, 자궁내막조직의 상피세포와는 반응하지 않는 특이성을 가지고 있다. 최근 림프절이나 골수, 혈청 등의 미세전이에 대한 관심이 높아지면서 결장직장종양에서도 림프전이에 대한 많은 연구가 보고되고 있다. 특히 Dukes' B 병기의 대장암 환자에서 림프전이자가 수술 후 독립적 예후인자로 작용하는가, 재발률 및 생존율과 관계가 있는가 하는 문제는 여전히 논란이 되고 있다. 일부에서는 림프전이가 예후인자로 역할을 하고 생존율과 관계가 있기 때문에 명확한 전이로 간주하여 미세전이 확인을 위한 노력을 해야 한다고 주장하는 반면¹⁰⁻¹⁵ 일부에서는 미세전이가 예후인자로 의미가 없으며 생존율과도 상관관계가 없다고 보고하고 있다.^{2,16-19} 본 연구는 근치적 절제술 후 H&E 염색상 림프절 전이가 없었던 Dukes' B 병기 대장암환자를 대상으로 pancytokeratin 항체를 이용한 면역조직화학법을 통해 고전적인 병리검사에서 발견되지 않은 림프전이의 빈도를 조사하고 이러한 미세전이와 알려진 임상적, 병리학적 예후인자, 재발률 및 생존율과의 관계를 밝히고자 한다.

방 법

1) 실험대상

1996년 1월부터 2001년 12월까지 만 6년간 순천향대학병원 외과학교실에서 근치적절제술을 받은 대장암 환자 가운데 절제된 림프절의 개수가 10개 이상이고 H&E 염색상 림프절 전이가 없었던 Dukes' B 병기 환자 101명의 환자 중 H&E 재염색상 양성되었던 8명과 암과 무관하게 사망한 3명(뇌경색 1명, 만성심부전증 1명, 폐색전증 1명)을 제외한 추적관찰이 가능한 90명을 대상으로 후향적으로 조사하였다. 평균 추적관찰 기간은 35.1개월이었다.

2) 면역조직화학

포르말린에 고정하여 파라핀에 포매된 림프절을 4 μ m 두께로 박절하여 Probe on Plus Slide[®] (FisherBiotech, PA, USA)에 부착하여 57도 열판에 1시간 동안 둔 후 xylene에 탈파라핀하고 100%, 95%, 80%, 70% 알코올에서 차례대로 함수과정을 거친 후 흐르는 물에서 5분간 수세하였다. 항원 발현을 향상시키기 위하여 조직을 pH 6.0의 10 mm/L sodium citrate buffer에 담근 후 전자레인지에서 17

분간 가열한 후 실온에서 서서히 식혔다. 내인성과산화효소를 억제하기 위해 3% 과산화수소수에 10분간 처리한 후 pH 7.6 PBS (인산염)완충액으로 세척하였다. 면역조직화학은 Ultra Streptavidin Detection System[®] (Signet, MA, USA)를 사용하였으며, 일차 항체로 이미 희석된 단일 클론 Pancytokeratin Antibody[®] (Signet, MA, USA)를 상온에서 50분간 반응시킨 후 PBS (인산염완충액)으로 세척한 뒤 2차 항체인 anti-mouse immunoglobulin을 가하여 실온에서 30분간 반응시키고 PBS (인산염완충액)으로 세척하였다. 3-amino-9-ethylcarbazole[®] (Immunotech, Marseille, France)으로 발색시킨 후 Mayer's hematoxylin[®] (Merk, Germany)으로 대조 염색을 하고 투명화 과정을 거쳐 Crystal Mount[®] (Biotech, CA, USA)로 봉입한 후 광학 현미경으로 검경하였다. 일차로 저배율로 검경하여 세포질이 적갈색으로 염색되며 세포막에서 보다 진하게 염색되는 세포를 발견하면 고배율로 확인하여 전이된 종양 세포 유무를 1명의 병리 의사가 판정하였다(Fig. 1). 미세전이는 단독 세포 단위, 소군집, 혼합형으로 나누어 판독하였다(Fig. 2).

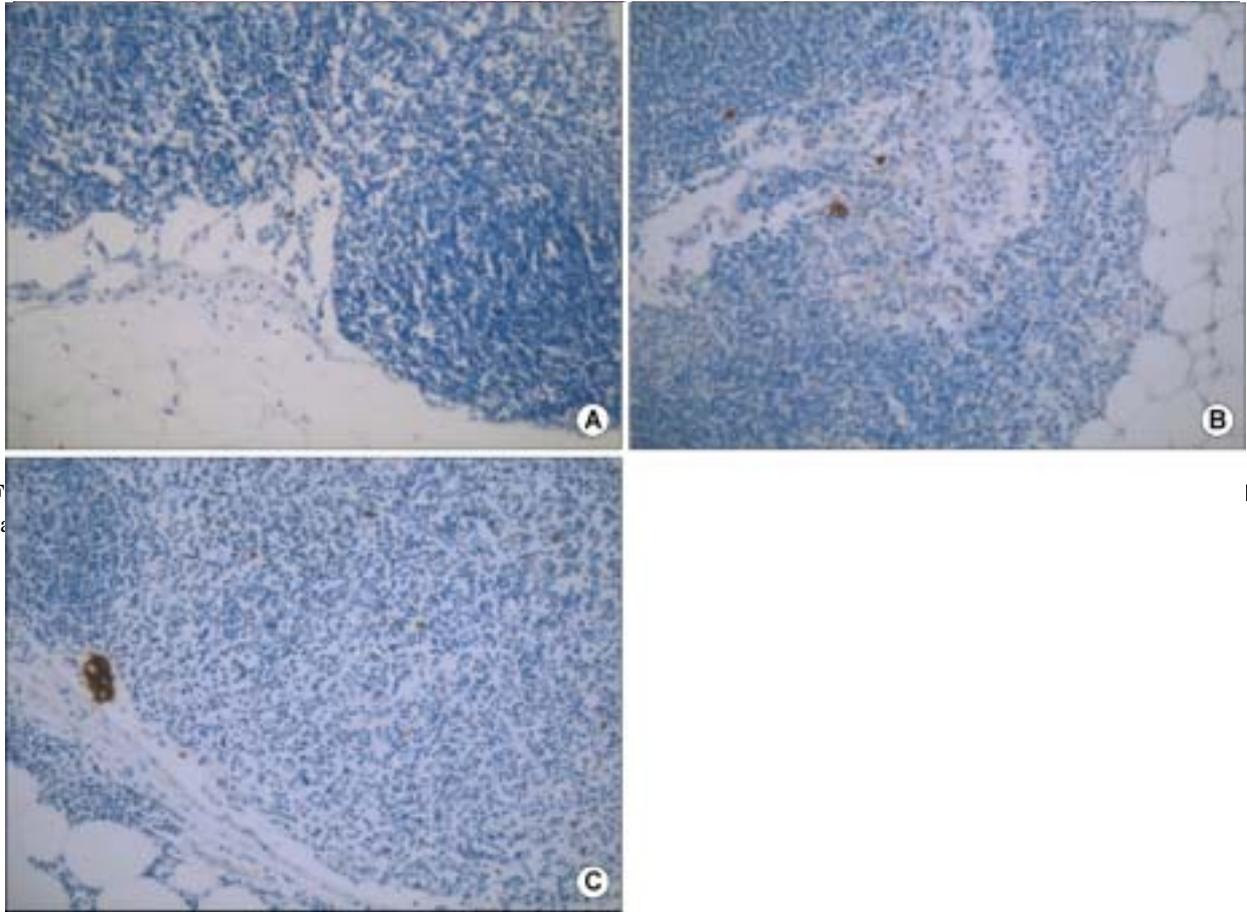
3) 통계 분석

환자의 생존 유무는 환자의 외래 의무기록과 전화 통화의 방법을 통하여 무병 생존기간을 산출하였다. 미세전이가 발견된 군과 미세전이가 없었던 군간의 재발률 및 연령, 성별, 수술 전후 CEA수치, 종양의 크기, 종양의 위치, 침범 정도, 조직 분화도, 수술 부위, 수술 술식 등의 예후인자와의 관계를 SPSS 10.0 for windows 통계 프로그램을 이용하여 unpaired t-test, fisher's exact test, Chi-squared test를 이용하여 검정하였고, P-value 0.05 이하인 경우 통계학적 유의성이 있는 것으로 판정하였다. Kaplan-Meier법으로 누적 생존율을 산출하였으며, 생존 곡선의 비교는 log-rank test하였다.

결 과

1) 대상 환자의 분포(Table 1)

대상 환자들의 연령은 35세에서 88세(평균연령: 62.3세)까지였으며, 남자 58명(64%), 여자 32명(36%)이었다. 환자의 병기는 T2N0M0 25명(27%), T3N0M0 65명(73%)으로 Dukes 병기 B인 환자들만을 대상으로 하였다. 종양의 크기는 2 cm에서 15 cm까지(평균종양의 크기: 4.9 cm)였으며 종양의 위치별 분포는 우측 대장암 19예(22%), 좌측 대장암 29예(32%), 직장암 42예(46%)였다. 조직학적 분화도에 따른 분포는 고분화암 29예(33%), 중등도 분화



암 58예(64%), 저분화암 3예(3%)였다. 90명의 환자에서 절제된 림프절의 총 개수는 1,450개로 평균 16.1개였다 (범위: 10~72개). 90명의 환자 중 32명(35.6%)에서, 총 절제 림프절 1,450개 중 115개(7.9%)에서 림프전이 발견되었다. 미세전이의 유형은 단독 세포 단위(22%), 소군집(13%), 혼합형(65%)으로 나타났다.

Table 1. Demographic findings of the patients with colorectal neoplasms (N=90)

Characteristics		No. of patients (%)
Sex	Male	58 (64)
	Female	32 (36)
Location	Right	19 (22)
	Left	29 (32)
	Rectum	42 (46)
Histologic grade	Well differentiated	29 (33)
	Moderately differentiated	58 (64)
	Poorly differentiated	3 (3)
Stage	T1N0M0	20 (22)
	T2N0M0	35 (37)
	T3N0M0	65 (73)

Fig. 2. Immunohistochemical patterns of micrometastasis of colorectal neoplasms. (A) Several single cancer cells are seen in the subcapsular sinuses (pancytokeratin, ×200). (B) Few clusters of cancer cells are seen in the sinuses (pancytokeratin, ×200). (C) A few small clusters of cancer cells are seen (pancytokeratin, ×200).

Table 3. Pathologic features of the patients with colorectal neoplasms

Characteristics	Without micrometastasis (N=58)	With micrometastasis (N=32)	P Value
Histologic grade*	18 : 39 : 162.7 (35~88)	11 : 10 : 51.2 (38~80)	NS*
Stage	7 (12%) 38 : 20	4 (13%) 20 : 12	NS
Mean tumor size (cm)	8 (18.7%) 5.3 (2~8)	26 (81.3%) (2~15)	P<0.000
Tumor site †	12 : 18 : 28	7 : 11 : 14	NS
Operation option ‡ §	22 (38%)	3 (9%)	NS
Preoperative CEA (ug/dl)	36 (62%) 9.6 (0.25~67.8)	29 (91%) (0.32~60)	P<0.003
Postoperative CEA (ug/dl)	4.3 (0.13~87.8)	5.8 (0.27~72.8)	NS
<5	51 (88%)	28 (88%)	NS
≥5	7 (12%)	4 (12%)	NS

*Histologic grade = Well : Moderately : Poorly; † NS = not significant; ‡ TNM = UICC (international union against cancer)/AJC (American joint committee on cancer); § B1/2 = modified dukes' classification.

2) 미세전이와 임상적 예후인자와의 관계(Table 2)

미세전이가 없었던 군과 있었던 군 간의 임상적 예후인자 즉, 평균 연령(62.7 : 61.5세), 성별(남 : 여=38 : 20, 20 : 12) 평균 종양의 크기(5.3 cm : 4.7 cm), 종양의 위치(우측 : 좌측 : 직장=12 : 18 : 28, 7 : 11 : 14), 수술 방법, 수술 전후 측정된 CEA 수치(술 전 CEA=9.6 : 14.5, 술 후 CEA=4.3 : 5.8)에서 모두 통계학적 유의성이 없었다.

3) 미세전이와 병리학적 예후인자와의 관계(Table 3)

병리학적 예후인자 중 분화도나 혈관 침범에 대해서는 전체적으로는 통계학적 유의성이 없었으나, 병기에 따라서는 T2N0M0 (B1)인 경우에는 유의성이 없었던 반면 T3N0M0 (B2)일 경우에는 유의성을 가졌으며(P<0.000) 림프관 침윤에 따라서도 유의성을 가지는 것으로(P<

Table 4. Micrometastasis and recurrence of colorectal neoplasms

Characteristics	Without micrometastasis (N=58)(%)	With micrometastasis (N=32)(%)	P value
No recurrence	55 (94)	28 (87)	0.127
Recurrence	3 (6)	5 (16)	
Recurrence site			
Liver	3 (5)	3 (9)	NS*
Liver and ovary	0 (0)	1 (3)	NS
Liver and lung	0 (0)	1 (3)	NS

*NS = not significant.

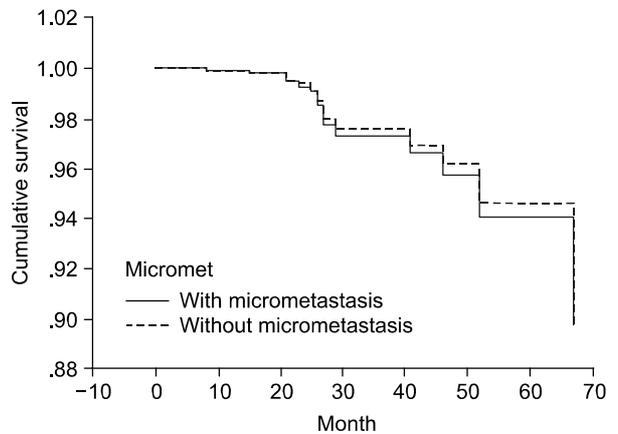


Fig. 3. Survival rate according to the lymphatic metastasis in patients with Dukes' B colorectal neoplasms.

0.003) 나타났다.

4) 미세전이와 재발률과의 관계(Table 4)

재발률에 대해서는 두 군 간의 차이는 뚜렷하였으나 통계학적 유의성은 없었다.

5) 미세전이와 생존율과의 관계(Fig. 3)

생존율에 대해서는 Kaplan-Meier법으로 누적 생존율을 비교하였을 때 두 군 간에 통계학적 유의성이 없었다.

고 찰

결장직장종양에서 가장 잘 알려진 예후인자는 원발암의 장벽 침범도, 결장직장 주변부의 림프절 전이여부 그리고 타 장기로의 전이여부이다. 이 중 원격전이가 없는 경우 생존율에 가장 영향을 미치는 예후인자 가운데 하나가 림프절 전이 여부이다. 일반적으로 병기 C인 경우가 림프절 전이가 없는 경우보다 수술 후 생존율이 낮다. 5년 생존율을 비교해 보면 대략 Dukes 병기 A인 경우 90~95%, 병기 B는 70~85%, 병기 C는 40~60%이다.^{1,20} 이러한 생존율의 현격한 차이 때문에 림프절 전이 상태에 대한 정확한 판정은 수술 후 치료 계획 수립에 가장 중요한 요소라 하겠다. 림프절의 전이여부는 절제된 조직에서 림프절의 선별 방법,²¹ 림프절의 절단 및 검색한 절편의 수,⁹ 염색 방법, 그리고 병리학사의 판별력에 따라 달라진다. 병리학적으로 림프절 전이가 없었던 20~30% 정도는 국소 재발이나 혈행성 전신 재발에 의해 사망하게 되는데 이것은 고전적인 H&E 염색법으로는 진단하기 어려운 미세전이에 의해 일어나는 것으로 설명하고 있다.² 림프절의 전이라고 진단 내리기 위해서는 일반적으로 종양 세포의 정기, 착상, 증식, 혈관의 유출, 기질반응 등의 요건을 갖추어야 하는데 최근 논의되고 있는 미세전이라는 명칭은 이런 조건에서 볼 때 엄격한 의미의 전이라고 말하기는 어렵다. 그래서 International Union Against Cancer (UICC)에서는 1999년 림프절의 일반적인 H&E 염색상 간과되는 잠재적 종양 세포에 대해 Isolated Tumor Cells (ITC)라고 명칭하였고 2001년도에는 TNM Supplement에서 인정되었다.²² 이러한 미세전이를 확인하기 위한 여러 가지 방법들이 소개되고 있는데 연속절편 검사법, 면역조직화학법(Immunohistochemical staining), 유전자 증폭을 이용한 역전사 중합효소 연쇄반응법(이하 RT-PCR법, Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction method) 등의 방법이 소개되고 있다.²³ RT-PCR법은 미세전이의 발견율에서 면역화학염색법보다 우수한 성적을 보이거나 위

양성률 및 임상적 의의에 대한 논란이 되고 있다. 종양 세포의 DNA 발견이라는 측면에서는 RT-PCR법이 다른 검사 방법에 비해 탁월한 결과를 보이거나 과연 종양 세포의 DNA 존재가 종양 세포의 미세전이를 의미하는지에 대해서는 회의적인 시각도 많다. 또한 포르말린 고정 하에서는 RNA를 추출할 수 없기 때문에 후향적 연구가 불가능하다는 단점도 있다. 그러나 Hayashi 등은 RT-PCR법에 의해 Dukes' B 병기 환자에서 고위험도군을 선별할 수 있다고 주장한 바가 있는데²⁴ 이런 임상적 의의를 확인하기 위해서는 앞으로 대규모 전향적 연구가 동반되어야 할 것으로 생각된다. Cytokeratin 항체를 이용한 면역조직화학염색법은 잠재적 종양세포-미세전이에 대한 특이성이 높아 미세전이 발견에 주로 이용된다. Cytokeratin은 현재까지 약 20여종의 isotype이 밝혀져 있으며 이 중 cytokeratin 8,19,20이 상피 세포 기원 종양에 특이성을 갖고 있어서 이들을 이용한 면역조직화학법이 활발히 시행되고 있다.⁴ 대장암의 미세전이와 다른 예후 인자들과의 상관관계는 보고에 따라 다른데 Noura 등,¹⁸ Jeffers 등²⁵의 연구에서는 모두 관계가 없는 것으로 보고되었고, 본 연구에서는 Dukes 병기 B2 (T2N0M0)일 경우와 림프절 침범에 대해서는 유의성을 가졌으나 그 외 알려진 임상적, 병리학적 예후인자, 재발률, 생존율에 대해서는 관계가 없는 것으로 나타났다. 다만 재발률에 대해서는 P값이 0.127로 통계학적 성향을 가지는 것으로 나타나 보다 많은 예를 대상으로 추가 연구가 필요할 것으로 생각된다. 면역조직화학법에 근거한 미세전이의 예후적 가치 평가에 대해서는 많은 논란이 있다. Lee 등⁴은 미세전이가 5년 생존율과 재발률에서 유의한 차이가 있다고 보고하였고 Isaka 등¹³은 5년 생존율은 차이가 없지만 10년 생존율에서는 유의한 차이가 있었다고 보고하였다. 또한 이러한 결장직장종양뿐만 아니라 위암,^{26,27} 유방암²⁸ 등에서도 예후인자와의 연관성이 주장되고 있다. 반면 대부분의 연구에서는 미세전이가 생존율에 영향을 미치지 못하기 때문에 예후와의 상관관계가 없는 것으로 보고하였는데^{2,16,25,29,30} 이들의 의견은 단일 종양 세포가 림프절에서 착상, 성장하기 전에 숙주의 면역기전에 의해 파괴되어 생존할 수 없기 때문에 진정한 의미의 전이가 나타나지 않는다고 보고하였다. Fisher 등은 미세전이의 임상적 의의를 밝히기 위해 NSABP연구에서 399명의 결장직장암 환자를 대상으로 전향적 무작위 연구를 시행하였다. 이 연구에서 기존의 2 mm design으로 하지 않고 1 mm design하의 최소 미세전이(mini-micrometastasis)의 개념을 도입하였다.¹⁶ 이는 미세전이의 예후적 인자로서의 평가에 중요한 의미를 가지는데 이러한 최소미세전이의 전향적 연구에서 생존

을 포함한 어떠한 예후인자와도 상관관계를 밝히지 못했다고 보고하였다. 본 연구에서의 결과가 이러한 예후인자와의 관계가 없으므로 규정하기에는 대상 집단이 작고(N=90), 후향적 연구이기 때문에 대규모 무작위 대조군 형태의 전향적 연구가 필요할 것으로 생각된다.

결 론

대장암의 예후를 결정하는 많은 요소 중 림프절 전이 여부는 매우 중요한 예후인자로 많은 연구에서 보고하고 있다. 그러나 병리조직학적으로 림프절 전이가 없었던 상당수의 환자들이 국소 재발이나 혈행성 전이로 사망하게 되며, 이러한 사실은 고전적인 H&E 염색법으로는 진단하기 어려운 미세전이로 인해 일어나는 것으로 설명하여 왔다. 본 연구는 이러한 미세전이와 임상적, 병리학적으로 예후인자, 재발률 및 생존율과의 관계를 알아보기 위해 계획되었다. 단일 클론 pancytkeratin 항체를 이용한 면역조직화학법은 Dukes' B 병기의 결장직장종양 환자의 미세전이를 발견하는 데 유용한 검사이다. 그러나 본 연구의 결과에서 알 수 있듯이 미세전이가 발견된 군과 발견되지 않은 군 간의 임상적, 병리학적으로 예후인자, 재발률 및 생존율과의 관계에 있어서는 그 영향이 크지 않았다.

따라서 고전적인 H&E 염색법으로 림프절 전이가 없었던 환자에 대해 미세전이를 발견하기 위한 추가적인 면역조직화학법이 반드시 필요한 것인지에 대해서는 좀 더 많은 연구를 통한 신중한 검토가 필요할 것으로 생각하는 바이다.

REFERENCES

- American joint committee on cancer. Manual for staging of cancer. 4th ed. Philadelphia: Lippincott; 1992.
- Broll R, Schauer V, Schimmelpenning H, Strik M, Woltmann A, Best R, et al. Prognostic relevance of occult tumor cells in lymph nodes of colorectal carcinomas. *Dis Colon Rectum* 1997;40:1465-71.
- Nakanishi Y, Ochiai A, Yamauchi Y, Moriya Y, Yoshimura K, Hirohashi S. Clinical implications of lymph node micrometastases in patients with colorectal cancers. *Oncology* 1999;57:276-80.
- 이석환, 김태영, 김윤화, 고석환, 윤 충, 오수명 등. 대장암의 미세전이에 관한 면역조직화학적 연구. *대한대장항문학회지* 2000;16:78-86.
- Adell G, Boeryd B, Franlund B, Sjudahl R, Hakansson L. Occurrence and prognostic importance of micrometastases in regional lymph nodes in Dukes' B colorectal carcinoma: An immunohistochemical study. *Eur J Surg* 1996;162:637-42.
- Cutait R, Alves VA, Lopes LC, Cutait DE, Borges JL, Singer L, et al. Restaging of colorectal cancer based on the identification of lymph node micrometastases through immunoperoxidase staining of CEA and cytokeratins. *Dis Colon Rectum* 1991;34:917-20.
- Sasaki M, Watanabe H, Jass JR, Ajioka Y, Kobayashi M, Hatakeyama K. Immunoperoxidase staining for cytokeratins 8 and 18 is very sensitive for detection of occult node metastasis of colorectal cancer: a comparison with genetic analysis of K-ras. *Histopathology* 1998;32:199-208.
- Clarke G, Ryan E, O'keane JC, Crowe J, MacMathuna P. The detection of cytokeratins in lymph nodes of Dukes' B colorectal cancer subjects predicts a poor outcome. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2000;12:549-52.
- 이민혁, 서원석, 정희정, 조규석, 신웅진, 박경규 등. Cytokeratin 19에 대한 RT-PCR법의 감수성 측정 및 유방암 환자 골수에서 미세전이 발견. *대한외과학회지* 2000;58:34-43.
- Shimoyama M, Yamazaki T, Suda T, Hatakeyama T. Prognostic significance of lateral lymph node micrometastases in lower rectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2003;46:333-9.
- Greenson JK, Isenhardt CE, Rice R, Mojzisek C, Houchens D, Martin EW Jr. Identification of occult micrometastases in pericolic lymph nodes of Dukes' B colorectal cancer patients using monoclonal antibodies against cytokeratin and CC49. *Cancer* 1994;73:563-9.
- Liefers GJ, Cleton-Jansen AM, Van de Velde CJ, Hermans J, Van Krieken JH, Cornelisse CJ, et al. Micrometastases and survival in stage II colorectal cancer. *N Engl J Med* 1998;339:223-8.
- Isaka N, Nozue M, Doy M, Fukao K. Prognostic significance of perirectal lymph node micrometastases in Dukes' B rectal carcinoma: an immunohistochemical study by CAM5.2. *Clin Cancer Res* 1999;5:2065-8.
- Yasuda K, Adachi Y, Shiraishi Y, Yamaguchi K, Hirabayashi Y, Kitano S. Pattern of lymph node micrometastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2001;8:300-4.
- Merrie AEH, Van Rij AM, Dennett ER, Phillips LV, Yun K, McCall JL. Prognostic significance of occult metastases in colon cancer. *Dis Colon Rectum* 2003;46:221-31.
- Fisher ER, Colangelo L, Wieand S, Fisher B, Wolmark N. Lack of influence of cytokeratin-positive mini-micrometastases in "negative node" patients with colorectal cancer: findings from the national surgical adjuvant breast and bowel projects protocols R-01 and C-01. *Dis Colon Rectum* 2003;46:1021-6.
- Oberg A, Stenling R, Tavelin B, Lindmark G. Are lymph node micrometastases of any clinical significance in Dukes' stages A and B colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1998;41:1244-9.
- Noura S, Yamamoto H, Miyake Y, Kim BN, Takayama O, Seshimo I, et al. Immunohistochemical assessment of localiz-

ation and frequency of micrometastases in lymph nodes of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2002;8:759-67.

19. Rosenberg R, Hoos A, Mueller J, Baier P, Stricker D, Werner M, et al. Prognostic significance of cytokeratin-20 reverse transcriptase polymerase chain reaction in lymph nodes of node-negative colorectal cancer patients. *J Clin Oncol* 2002;20:1049-55.
20. Fisher ER, Sass R, Palekar A, Fisher B, Wolmark N. Dukes' classification revisited; findings from NSABP protocol R-01. *Cancer* 1989;64:2354-60.
21. Herrera-Ornelas L, Justinianon J, Castillo N, Petrelli NJ, Stulc JP, Mittelman A. Metastasis in small lymph nodes from colon cancer. *Arch Surg* 1987;122:1253-6.
22. Fisher ER, Siderits RH, Sass R, Fisher B. Value of assessment of ploidy in rectal cancers. *Arch Pathol Lab Med* 1989;113:525-8.
23. Mori M, Mimori K, Inoue H, Barnard GF, Tsuji K, Nanbara S, et al. Detection of cancer micrometastases in lymph nodes by reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Cancer Res* 1995;55:3417-20.
24. Hayashi N, Ito I, Yanagisawa A, Kato Y, Nakamori S, Imaoka S, et al. Genetic diagnosis of lymph node metastasis in colorectal cancer. *Lancet* 1995;345:1257-9.
25. Jeffers MD, O'Dowd GM, Mulcahy H, Stagg M, O'Donoghue DP, Toner M. The prognostic significance of immunohistochemically detected lymph node micrometastases in colorectal carcinoma. *J Pathol* 1994;172:183-7.
26. Fukagawa T, Sasako M, Mann GB, Sano T, Katai H, Maruyama K, et al. Immunohistochemically detected micrometastases of the lymph nodes in patients with gastric carcinoma. *Cancer* 2001;92:753-60.
27. 박경규, 문 철, 이문수, 허경열, 장용석, 김재준 등. 위암에서 림프절 미세전이의 면역조직화학적 방법에 의한 측정 및 생존율과의 상관관계. *대한위암학회지* 2002;2:5-11.
28. 이민혁, 임철완, 유기원, 전훈배, 윤익진, 허경열 등. 액와림프절 전이 음성 유방암에서 미세전이의 의의. *대한외과학회지* 1999;57:337-45.
29. Davidson BR, Sams VR, Styles J, Deane C, Boulos PB. Detection of occult nodal metastases in patients with colorectal carcinoma. *Cancer* 1990;65:967-70.
30. Choi HJ, Choi YY, Hong SH. Incidence and prognostic implications of isolated tumor cells in lymph nodes from patients with Dukes' B colorectal carcinoma. *Dis Colon Rectum* 2002;45:750-6.